



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA ACADÉMICA PROFESIONAL DE MEDICINA**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE
Ocimum basilicum “albahaca” SOBRE *Escherichia coli* ATCC27923
COMPARADO CON CIPROFLOXACINO**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO CIRUJANO**

AUTOR

LUBER JHONNY FLORES CHINININ

ASESORES

DRA. LLAQUE SÁNCHEZ MARÍA ROCÍO DEL PILAR

MG. BLGO. POLO GAMBOA JAIME

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

TRUJILLO – PERÚ

2018

DEDICATORIA

A Dios, por acompañarme y darme la fuerza, paciencia y fortaleza para perseverar en el cumplimiento de mis metas, iluminando mi camino para el éxito de mi carrera profesional.

A mi familia, en especial a mis padres y hermanos, quienes me brindan su amor, confianza y consejo para cada día ser una mejor persona.

LUBER JHONNY FLORES CHINININ

AGRADECIMIENTO

A los docentes, por sus enseñanzas y orientación para el desarrollo de mi carrera profesional.

A mi asesor, por sus consejos, paciencia y disposición para transmitir conocimiento que me sirvió para el desarrollo y culminación de mi tesis.

LUBER JHONNY FLORES CHINININ

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y títulos de la Universidad César Vallejo, presento ante ustedes la tesis titulada: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Ocimum basilicum* “albahaca” SOBRE *Escherichia coli* ATCC27923 COMPARADO CON CIPROFLOXACINO, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

El Autor

INDICE

PAGINAS PRELIMINARES	
PAGINA DEL JURADO	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD	iv
PRESENTACIÓN.....	v
INDICE.....	vi
RESUMEN	vii
ABSTRAC.....	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA	1
1.2. TRABAJOS PREVIOS	2
1.3. TEORIAS RELACIONADAS CON EL TEMA	6
1.4. FORMULACION DEL PROBLEMA:.....	11
1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO:	11
1.6. HIPÓTESIS	12
1.7. OBJETIVOS:.....	12
1.7.1 OBJETIVO GENERAL.....	12
1.7.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS:	13
II. MÉTODO.....	13
2.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:.....	13
2.2 VARIABLES Y OPERALIZACIÓN	14
2.3 POBLACIÓN Y MUESTRA	15
2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD	17
2.5 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS.....	18
2.6 ASPECTOS ÉTICOS:	18
III. RESULTADOS	19
IV. DISCUSIÓN.....	23
V. CONCLUSIONES	26
VI. RECOMENDACIONES	27
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	28
VIII. ANEXO.....	34

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar si el extracto etanólico de la hoja de *Ocimum basilicum* “Albahaca” tuvo efecto antibacteriano sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 27923 comparado con Ciprofloxacino a la concentración de 5 µg. en un estudio in vitro. Se realizaron cuatro diluciones (100, 75, 50 y 25%) con control neutro de DNSO. Se obtuvo que el extracto etanólico de la hoja de albahaca muestra cierto grado de inhibición a partir del 75 %, (7.12 mm de halo de inhibición) a 100%, donde se evidencia el mayor halo de inhibición de 13.53mm (DS: 2.15+_0.522 IC al 95% 12.42, a 14.64) en un rango de 8-16mm. El halo de inhibición de ciprofloxacino (36.41mm) fue tres veces mayor que el halo de inhibición a la dilución al 100%. Concluyéndose, que el extracto de *Ocimum basilum* presenta efecto antibacteriano, siendo mayor en altas concentraciones, pero su efecto es menor que el ciprofloxacino.

PALABRAS CLAVES: Efecto antibacteriano, *Ocimum basilum*, *Escherichia coli*

ABSTRAC

The objective of the present study was to evaluate if the ethanolic extract of the leaf of *Ocimum basilicum* "*Albahaca*" had antibacterial effect on strains of *Escherichia coli* ATCC 27923 compared with Ciprofloxacin at the concentration of 5 µg. in an in vitro study. Four dilutions were made (100, 75, 50 and 25%) with neutral control of DNSO. It was obtained that the ethanolic extract of the leaf of *albahaca* shows a certain degree of inhibition from 75%, (7.12 mm of halo of inhibition) to 100% where the greater halo of inhibition of 13.53mm is evidenced (DS: 2.15 + _0.522 95% CI 12.42, to 14.64) in a range of 8-16mm. The inhibition halo of ciprofloxacin (36.41mm) was three times greater than the inhibition halo at 100% dilution. It is concluded, that the extract of *Ocimum basilum* has an antibacterial effect, being higher in high concentrations, but its effect is lower than ciprofloxacin.

KEY WORDS: Antibacterial effect, *Ocimum basilum*, *Escherichia coli*

I. INTRODUCCIÓN

1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA

Las enfermedades diarreicas transmitidas por alimentos contaminados generan un importante impacto en la población pediátrica. La Organización mundial de la salud (OMS) estima que 1 de cada 10 menores adolece cada año al ingerir alimentos contaminados y fallecen 420 000 a causa de las enfermedades diarreicas agudas. Casi el 30% de todos los fallecimientos a causa de las enfermedades diarreicas se producen en menores de 5 años a pesar de que esta población de este grupo etario solo representa el 9% de toda la población mundial. Los agentes bacterianos que se encuentran con mayor frecuencia están *Campylobacter*, *Escherichia coli* y *Salmonella no typhi*¹.

Escherichia coli es una bacteria Gram negativa que tiene como hábitat natural la porción media y distal del tracto gastrointestinal, *Escherichia coli* tiene varios tipos que se diferencian por los antígenos y toxinas que generan, algunos pueden ser mortales como *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC). Este tipo bacteriano ocurre en todos los países. La incidencia parece variar entre los países. En 2004, el número de casos confirmados por laboratorio en la Unión Europea y Noruega fue de 1,3 casos por 100 000 habitantes, mientras que en el mismo año la incidencia en los Estados Unidos fue de 0,9 casos por 100 000 personas².

La albahaca se ha utilizado tradicionalmente como especia de la comida, en industrias de la perfumería y de la medicina. El Extracto etanólico tiene actividades antimicrobianas, repelente de insectos, anticonvulsivos, hipnóticos y antioxidantes. La composición química del Extracto etanólico de *Ocimum basilicum* de diferentes partes del mundo se encontró que los principales constituyentes eran linalol, metilcavicol o citral y 1,8-cineol, alcanfor, timol, cinamato de metilo, eugenol, Eugenol, metil isoeugenol y

elemicina, dichos componentes activos le confieren la propiedad antibacteriana ³.

1.2. TRABAJOS PREVIOS

Adam Z. Omer A. (Sudan, 2015) estudiaron la actividad antibacteriana del extracto etanólico a diferentes concentraciones (100, 50, 25, 12.5, 6.25 ug/disc) de sobre múltiples patógenos, mediante la técnica de difusión en discos de placas de agar. Los resultados encontrados fueron para *Escherichia coli* un halo de 13.6 mm, para *Klebsiella pneumoniae* un halo de 13mm, para *proteus mirabilis* un halo de 14mm, y finalmente para *Staphylococcus aureus* un halo de 13.9mm. Los autores concluyeron que el extracto de hoja de *Ocimum basilicum* tenía una potente actividad antibacteriana contra diversas cepas de patógenos bacterianos. Estos hallazgos respaldan el hecho de que esta planta podría ser útil en el cuidado de la salud a base de hierbas y se recomienda aislar y separar los compuestos bioactivos responsables de esta actividad antibacteriana utilizando técnicas científicas avanzadas ⁴.

Mohammed C. et al (Algeria, 2015) estudiaron el efecto antibacteriano del Extracto etanólico de hojas de Albahaca (*Ocimum basilicum* L.), sobre patógenos *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Streptococcus aureus* mediante el método de difusión en placas de agar. Los resultados encontrados para *Escheria coli* fueron un halo de 36 mm \pm 2.1, para *P. aeruginosa* 29 mm \pm 2.3 y para *S. aureus* un halo de 38 mm \pm 1.5. El estudio concluyo que el Extracto etanólico de las hojas albahaca tiene componentes bioactivos con potencial actividad antibacteriana ⁵.

Eriotou E. et al (Grecia, 2015) determinaron el efecto antibacteriano del Extracto etanólico de *Ocimum basilicum* sobre patógenos Gram negativos y Gram positivos, mediante el método de difusión en discos de agar, y como control negativo se utilizó Eritromicina. El estudio encontró que *E. coli* tiene un halo de 15.33 mm \pm 0.6, para *K. pneumoniae* fue 8.7 mm \pm

0.6, y para *S. aureus* fue 13.3 mm +/-0.6. El estudio concluyó que el Extracto etanolico de Albahaca tiene buena actividad antimicrobiana tanto en patógenos Gram negativos como los Gram positivos ⁶.

Silva V. et al (Brasil, 2015), establecieron la acción antimicrobiana del aceite esencial del *Ocimum basilicum* y linalool frente a cepas del *S. aureus* y *P. aeruginosa*, y las oportunidades de muerte del microbio cada vez que enfrenta cada sustancia. La concentración mínima inhibitoria fue estimada mediante micro dilución y la vitalidad bacteriana expresada por la motilidad del germen, evaluando el tiempo promedio de muerte. Los resultados evidenciaron que el aceite esencial de *Ocimum basilicum* y del linalool tienen actividad antibacteriana contra *S. aureus* y *P. aeruginosa*, aunque algunas cepas de *P. aeruginosa* fueron resistentes al aceite. La prueba de la motilidad bacteriana evidenció actividad bacteriostática contra las cepas en casi todas las concentraciones, mientras que la MIC x 4 de cada aceite esencial o linolol evidenció actividad bactericida contra el *S. aureus*. El aceite esencial de *Ocimum basilicum* esencial evidencia actividad antibacteriana bacteriostática o bactericida contra cepas de origen clínico, generalmente asociada con su mayor componente, el linalol ⁷.

Muhannad. et al (Iraq, 2014) investigaron el efecto antibacteriano del extracto etanolico de *O. basilicum* en *Escherichia coli*, mediante la técnica de difusión en discos de agar a 100, 80, 60, 40, 20, 10mg/ml. Los resultados para la mayor concentración fueron un halo de 24mm ± 5.1, evidenciándose que el extracto etanolico de *Ocimum basilicum* tiene mejor actividad antibacteriana cuanto mayor es la concentración ⁸.

Sarhan S, et al (Iraq, 2014), investigaron la actividad antibacteriana del extracto etanólico de hojas *Ocimum basilicum* in vivo por inducción de diarrea en 5 grupos de ratas, por administración oral de *Escherichia coli* enteropatógena. Dos dosis de extracto de *Ocimum* 100, 200 mg/kg. Fueron usadas para tratar oralmente por 14 días esta infección, los cuales se compararon con el grupo E tratado con Trimethoprim/sulfa a dosis

6.85mg/kg de peso. El porcentaje resultante del extracto etanolico de *Ocimum basilicum* 95% fue 13%. Análisis indico la presencia de alcaloides, fenoles, taninos, saponinas, flavonoides, esteroides y terpenoides en niveles altos, mientras que los glicosidos estuvieron ausentes ⁹.

Los valores de Albumina retornaron a la normalidad durante el tratamiento con extracto a dosis de 200 mg/kg BW y Trimethoprim/sulfa a dosis 6.85mg/kg peso. Hubo retorno a la actividad intestinal secretoria a valores casi normales después del tratamiento por 7 días en comparación con otros grupos, mientras una dosis de 100 mg/kg de peso del extracto de *Ocimum* mostro solo leve disminución en las concentraciones de albumina luego de 7 días de tratamiento. El extracto de hojas de *Ocimum* a 200 mg/kg de peso fue más efectiva y segura que el antibacteriano control ⁹.

Khalil A. (Arabia Saudita, 2013) determinó el efecto antibacteriano del extracto etanolico de *Ocimum Basilicum* a diferentes concentraciones, frente a cepas bacterianas Gram positivas y Gram negativas. Los resultados encontrados para *Escherichia coli* fue de 21mm a una concentración de 200mg/ml, para *Staphylococcus aureus* un halo de 13mm a una concentración de 150mg/ml. Concluyendo que el extracto etanolico de *Ocimum basilicum* tiene buen efecto antibacteriano frente a patógenos Gram negativos ¹⁰.

Unnithan C. (India, 2013) estudiaron la composición química y el efecto antimicrobiano de las hojas de albahaca (*Ocimum basilicum*), a diferentes concentraciones (10ug/ml, 20 ug/ml, 40 ug/ml, 80 ug/ml), así mismo utilizaron como control positivo Amoxicilina 30ug/disk, mediante el método de difusión en discos de agar. Los resultados encontrados fueron para *S. aureus* un halo de 11.33 mm +/-0.169, y para *E. coli* un halo de 9.5 mm +/-0.071. El estudio concluyo que el Extracto etanolico de las hojas de albahaca tiene moderada actividad antibacteriana ¹¹.

Saha S. et al (India, 2013) identificaron la actividad antibacteriana del Extracto etanolico de *Ocimum basilicum* a diferentes concentraciones sobre patógenos Gram positivos y Gram negativos, mediante el método de difusión en discos de agar. Los resultados encontrados fueron expresados en diámetro de halos de inhibición (mm), para *Escherichia coli* MTCC 443 presento un halo de 16mm, para *S. flexneri* MTCC-1457 un halo de 18 mm y para *B. subtilis* MTCC 441 un halo de 22 mm. El Extracto etanolico de *Ocimum basilicum* demostró poseer propiedades interesantes contra patógenos bacterianos ¹².

Daneshian A, et al (Iran, 2011), analizaron las actividades antibacterianas del aceite esencial del *Ocimum basilicum* frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, mediante difusión en agar, identificando la concentración mínima inhibitoria (MIC) y la concentración mínima bactericida (MBC). Los resultados en agar mostraron zonas de inhibición: *S. aureus* 29.20-30.56 mm, *B. cereus* 10.66-16.11 mm, *E. coli* 17.48-23.58 mm y para *P. aeruginosa* fueron observadas las máximas las zonas de inhibición. Existen efectos bacteriostáticos del aceite esencial sobre todas las bacterias. Los MICs para Gram-positivas fueron: *B. cereus* (36-18 µg/mL), *S. aureus* (18 µg/mL), y para Gram-negativos *E. coli* y *P. aeruginosa* (18-9 µg/ml) ¹³.

Araujo et al (Brasil, 2010), examinaron los efectos farmacológicos sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, cuando sobre ellas se combinan antibióticos y el aceite esencial de *Ocimum basilicum*, cuyos componentes fueron extraídos por destilación al vapor. Aceite esencial de *Ocimum basilicum*, imipenem y ciprofloxacina mostraron actividades antibacterianas MIC de 1024, 4 y 2 µg / mL respectivamente, contra *S. aureus*. En *S. aureus*, la asociación de aceite esencial más imipenem mostró sinergia (FIC = 0.0625), mientras que el aceite esencial con ciprofloxacina mostró antagonismo (FIC = 4.25). En *P.*

aeruginosa, la asociación imipenem mas aceite esencial mostró adición para las cepas ATCC y sinergia para la cepa clínica (FIC = 0.75 y 0.0625). La asociación del aceite esencial con ciprofloxacina mostró sinergismo para las cepas clínicas (FIC = 0.09). El aceite esencial de *Ocimum basilicum* asociado con antibióticos puede aumentar su actividad antibacteriana, resultando en una actividad sinérgica contra cepas de importancia clínica ¹⁴.

Hossain M et al (Bangladesh, 2010), evaluaron la actividad antimicrobiana de aceites esenciales y extractos metanolicos de hojas de *Ocimum basilicum* L. para controlar el crecimiento de bacterias patogénicas. Los aceites esenciales extraídos de hojas y tallos fueron estudiados usando GC-MS. Cincuenta y siete elementos que representan 94.9% y 96.1% de los aceites de hojas y tallos, fueron reconocidos. El metil chavicol (36.7% y 29.9%), gitoxigenina (9.3 y 10.2%), trimetoquinol (10.3 y 8.4%), β -guaiene (3.7 y 4.1%), acifillene (3.4 y 3.0%), alizarin (3.2 y 4.4%), naftaline (2.2 y 3.8%), (–)-caryophyllene (2.0 y 1.9%), y mequinol (1.6 y 1.8%) fueron los más comunes. Los aceites esenciales (10 μ L/disc of 1:5, v/v dilución con metanol) y extractos metanolicos (300 μ g/disc) de *Ocimum basilicum* mostraron una gran actividad antibacteriana contra *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *B. megaterium*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Shigella boydii*, *S. dysenteriae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *V. mimicus*, y *Salmonella typhi* con sus respectivas zonas de inhibición de 11.2–21.1 mm y valores de MIC de 62.5 – 500 μ g/mL ¹⁵.

1.3. TEORIAS RELACIONADAS CON EL TEMA

La familia de las enterobacteriaceae es un grupo heterogéneo y amplio de bacilos Gram (-). En esta familia se ha identificado más de 40 géneros y cientos de especies y subespecies. La clasificación para estos géneros se establece según su función y sus propiedades bioquímicas, estructura

antigénica, hibridación con ADN-ADN, y secuencia de ARN 16s ¹⁶. A pesar de ser una familia numerosa, son pocos los de mayor importancia clínica. El hábitat natural para este grupo de bacterias es variado, podemos encontrarlo en el suelo, el agua, los vegetales y en el ser humano está presente en el tracto gastrointestinal. Algunas bacterias como *Salmonella typhi*, *shigella*, y *yersinia pestis* al encontrarse en el organismo casi siempre causan enfermedades, empero otras cepas como *escherichia coli*, *Klebsiella*, y *propeus* pueden colonizar el tracto gastrointestinal al no causar enfermedades ¹⁷.

Escherichia coli es un bacilo de un tamaño aproximado de 0.3 a 1 x 1 a 6 µm, tiene flagelo, así también pueden ser móviles e inmóviles y no forman esporas. El medio idóneo para su crecimiento es el aeróbico. *E. coli* puede crecer en varios medios bacteriológicos (agar sangre, agar MacConkey). Su metabolismo se basa primordialmente por la fermentación de glucosa, reduce los nitritos y produce la toxina catalasa y oxidasa. Las características macroscópicas de las colonias *E. coli* en agar MacConkey ayuda a las diferencias de otros serotipos (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*) por su capacidad de fermentar lactosa lo cual le confiere una coloración rosácea ¹⁸.

Escherichia coli es una de los patógeno bacterianos más abundantes que coexisten en el tracto gastrointestinal. Así también este patógeno posee numerosos factores de virulencia, pero estos no están presentes en todas las cepas. La mayoría de las cepas de *Escherichia coli* saprofitas carecen de factores de virulencia. Las enfermedades que puede generar este patógeno es variado desde una infección del tracto urinario hasta una bacteriemia con sepsis sistémica. Las infecciones del tracto urinario tienen como etiología más frecuente a *E. coli*, la mayoría de estas infecciones aparece en jóvenes y son debidos a la penetración de las vías urinarias por bacterias que colonizan la región peri uretral. La infección intestinal en su gran mayoría en pacientes pediátricos es causada por *E. coli*, así mismo existen algunas cepas de *E. coli* (entero hemorrágica), que generan una gastroenteritis semejante a la causado por *shigella*, empero

otros serotipos de *E. coli* (toxigenica) produce y expulsa toxinas análogas a las de *Vibrio cholerae* pudiendo ocasionar diarreas semejantes a las del cólera ¹⁹.

Existe un serotipo de *Eschechia coli* (O157 entero hemorrágica) que produce la toxina *Shiga*, esta puede generar cuadro de síndrome hemolítico-urémico, dicha condición clínica es más frecuente en pacientes pediátricos y es la principal causa de insuficiencia renal aguda en este grupo etario ²⁰. Por otro lado, en las infecciones intrahospitalarias el patógeno que se identifica con una frecuencia de 14% es *E. coli* como son las neumonías intrahospitalarias por aspiración, infecciones de sitio quirúrgico, bacteriemia entre otros. Así también las meningitis neonatales tienen como etiología frecuente a *E. coli* y otras enteras bacterias, convirtiendo a este patógeno en un problema de salud pública ²¹.

El ciprofloxacino es un antibacteriano empleado comúnmente para la erradicación de infecciones por *E. coli*. Es un antibiótico del tipo de fluoroquinolonas (FQs) prescrito para infecciones urinarias, por su amplio espectro contra bacterias Gram-negativas y positivas. Su actividad bactericida está relacionada a su concentración, siendo su mecanismo de acción el impedir la duplicación del ADN bacteriano bloqueando la DNA-girasa, una enzima que desorganiza el súper enrollamiento de la doble cadena de ADN, permitiendo que otros catalizadores accedan a la replicación ^{22,23}.

Las resistencias de *E. coli* y otras bacterias del tracto urinario a los antibióticos de uso común se ha incrementado en el mundo, disminuyendo la efectividad de los tratamientos convencionales. Es más, al incremento de una cepa *E. coli* productora de beta lactamasas de espectro extendido, se viene añadiendo con más frecuencia una resistencia cruzada a toda fluoroquinolonas, lo cual supone mayor preocupación ²⁴.

Recientemente debido al aumento alarmante en la tasa de infección por microorganismos resistentes a antibióticos, se encontraron inmensos problemas clínicos en el tratamiento de enfermedades infecciosas. Afortunadamente, los productos naturales, especialmente los aceites esenciales, pueden participar eficazmente en este ámbito ²⁵.

Los aceites esenciales (AE) se caracterizan por poseer aromas agradables, son, habitualmente obtenidos por arrastre con vapor de agua, así mismo son trascendentales en la elaboración de productos farmacéuticos como saborizantes, en la industria cosmética y alimentaria como perfumes y condimentos. Los aceites esenciales habitualmente son el resultado de una mezcla de más de 100 componentes. En su gran mayoría los aceites son de aroma agradable, empero no todos los aceites son así, como por ejemplo los de cebolla y ajo son de aroma desagradable debido a que contienen elementos azufrados ²⁶.

Los aceites esenciales podemos clasificarlos de diferentes formas, como son por su origen, consistencia y naturaleza química. En los primeros encontramos que los aceites pueden ser sintéticos, artificiales y naturales. Este último es obtenido directamente de la planta y no sufren cambios físico-químicos posteriores ²⁷. Por su consistencia encontramos: fluidos, bálsamos y oleorresinas. Las esencias fluidas son volátiles a temperatura ambiente. Los bálsamos son más espesas y menos volátiles si pues son más proclives a sufrir reacciones de polimerización. Los aceites sintéticos son producto de la combinación de componentes que en su mayoría son derivados de síntesis físico-química. Finalmente, los aceites esenciales podemos dividirlos según la composición química de acuerdo con el tipo de sustancia que predomine. Según esto podemos encontrar plantas ricas en monoterpenos, a estas se les denominara AE monoterpenoides. Los ricos en sesquiterpenos (AE sesquiterpenoides) y los ricos en fenilpropano (fenilpropanoides) ²⁸.

Ocimum basilicum L. (albahaca) pertenece a la familia Lamiaceae, que incluye alrededor de 200 especies se encuentran en diversas variedades

botánicos y formas. Tradicionalmente la albahaca se ha utilizado tradicionalmente como especia de la comida, en industrias de la perfumería y de la medicina. Los antiguos egipcios lo usaban en sus recetas médicas ²⁹. En la medicina popular, las hojas y la floración de la planta se prescriben como carminativas, galactogogo, estomacal, antiespasmódico. Sin embargo, recientemente se han investigado los usos potenciales del Extracto etanolico de *Ocimum basilicum*, particularmente como antimicrobiano, antifúngico, antioxidante y larvicida ³⁰.

La albahaca pertenece al reino plantae en la división magnoliophyta de la clase *magnoliopsida*, en el orden *Lamiales* de la familia *lamiaceae* del genero ocimun en la especie *basilicum*. *Ocimum* comprende más de 30 especies de hierbas y arbustos de las regiones tropicales y subtropicales de Asia, África, Centro y Sudamérica, pero el principal centro de diversidad parece ser África ³¹.

La albahaca es una hierba culinaria popular y una fuente de aceites esenciales extraídos por destilación de vapor de las hojas que se utilizan para condimentar los alimentos, así mismo lo utiliza la industria dentaria y en fragancias ³². El carácter aromático de cada tipo de albahaca se determina por el genotipo y depende de los principales compuestos químicos de aceites esenciales que consisten principalmente de monoterpenos y fenilpropanoides. La albahaca es una vegetal herbácea anual, cuyo tallo tiene una longitud de 50cm. Las hojas amplias, con diferente forma que varía según la especie, tiene una coloración verdusca, con un tono claro en la parte superior, así mismo se caracteriza por su aroma. Sus flores son de pequeño tamaño que florecen agrupadas de color blanco ³³.

Hay más de 150 especies de albahaca pertenecientes al género *Ocimum*. Las dos especies más cultivadas para la producción de Extracto etanolico son la albahaca sagrada (*Ocimum sanctum* L.) y la albahaca dulce (*Ocimum basilicum* L.). Aceite de albahaca se utiliza para

el sabor y la fragancia en la industria alimentaria, farmacéutica, cosmética y aromaterapia. El Extracto etanólico posee propiedades antimicrobianas. El Extracto etanólico de albahaca se ha extraído tradicionalmente de hierbas enteras (tallos, hojas y flores) utilizando destilación con vapor. La etapa de recolección óptima para la producción de Extracto etanólico se encuentra en floración, cuando el contenido de aceite y la composición preferida son los más altos. Varias especies de albahaca y cultivares proporcionan Extracto etanólico con diferentes composiciones y aroma. El rango quimiotaxonómico de la albahaca es muy amplio ³⁴.

El Extracto etanólico tiene actividades antimicrobianas, repelente de insectos, anticonvulsivos, hipnóticos y antioxidantes. La composición química del Extracto etanólico de *Ocimum basilicum* de diferentes partes del mundo se encontró que los principales constituyentes eran linalol, metilcavicol o citral y 1,8-cineol, alcanfor, timol, cinamato de metilo, eugenol, Eugenol, metil isoeugenol y elemicina ³⁵. En la medicina popular, las hojas y la floración de la planta se prescriben como carminativas, galactogogo, estomacal, antiespasmódico. Sin embargo, recientemente se han investigado los usos potenciales del Extracto etanolico de *Ocimum basilicum*, particularmente como antimicrobiano, antifúngico, antioxidante y larvicida ³⁶.

1.4. FORMULACION DEL PROBLEMA:

¿El Extracto etanólico de la hoja de *Ocimum basilicum* “**albahaca**” tiene efecto antibacteriano sobre las cepas de *Escherichia coli* **ATCC 27923** comparado con Ciprofloxacino, a 5 µg en un estudio in vitro?

1.5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO:

Escherichia coli es un patógeno productor de infecciones intestinales muy frecuentes y severas, reportándose un aumento de la resistencia a los

antimicrobianos de uso común, por cuyo motivo se está recurriendo de manera constante a la búsqueda de alternativas eficaces y seguras que provienen de recursos naturales, donde sus principios no causan reacciones indeseables. Bajo el conocimiento de la existencia de aceites esenciales y extractos con propiedades antisépticas y bactericidas de varias plantas en nuestra región, campo que por lo demás es poco explorado, es que se pretendió realizar la presente investigación, la cual buscó conocer si el Extracto etanólico de la hoja de *Ocimum Basilicum* “*Albahaca*” tuvo acción bactericida contra *Escherichia coli*, ya que los resultados afirmativos supusieron información alentadora que permitió plantear alternativas para la obtención de un preparado antimicrobiano útil, sin efectos indeseables y económico, para dicho patógeno.

1.6. HIPÓTESIS

H1: El Extracto etanolico de la hoja de *Ocimum basilicum* “*albahaca*” tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 27923 comparado con Ciprofloxacino, a 5 µg. en un estudio in vitro.

H0: El Extracto etanolico de la hoja de *Ocimum basilicum* “*albahaca*” no tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 27923 comparado con Ciprofloxacino, a 5 µg. en un estudio in vitro.

1.7. OBJETIVOS:

1.7.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar si el Extracto etanólico de la hoja de *Ocimum basilicum* “*Albahaca*” tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 27923 comparado con Ciprofloxacino a la concentración de 5 µg. en un estudio in vitro

1.7.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- Establecer el efecto antibacteriano de *Ocimum basilicum* “albahaca” al 100%.
- Establecer el efecto antibacteriano de *Ocimum basilicum* “albahaca” al 75%.
- Establecer el efecto antibacteriano de *Ocimum basilicum* “albahaca” al 50%.
- Establecer el efecto antibacteriano de *Ocimum basilicum* “albahaca” al 25%.
- Determinar el efecto antibacteriano de ciprofloxacino a 5 µg.

II. MÉTODO

2.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN Y TIPO DE INVESTIGACIÓN:

TIPO DE INVESTIGACIÓN: Básico

DISEÑO DE INVESTIGACION: Experimental con repeticiones múltiples, post prueba.

RG₁	X₁	O₁
RG₂	X₂	O₂
RG₃	X₃	O₃
RG₄	X₄	O₄
RG₅	X₅	O₅
RG₆	X₆	O₆

Dónde:

RG: Grupos de estudio

X1: Extracto etanólico de la hoja de *Ocimum Basilicum* al 100%

X2: Extracto etanólico de la hoja de *Ocimum Basilicum* al 75%

X3: Extracto etanólico de la hoja de *Ocimum Basilicum* al 50%

X4: Extracto etanólico de la hoja de *Ocimum Basilicum* al 25%

X5: Control Positivo: Ciprofloxacino 5 µg

X6: Control negativo: solución salina

O: Las observaciones del diámetro del halo de inhibición

2.2 VARIABLES Y OPERALIZACIÓN

VARIABLE INDEPENDIENTE: Agente antibacteriano

- **Agente antibacteriano no farmacológico:** Extracto etanólico de la hoja de *Ocimum basilicum* “Albahaca”
- **Agente antibacteriano farmacológico:** Ciprofloxacino a 5 µg. (Gold Estándar)

VARIABLE DEPENDIENTE: Efecto antibacteriano

- **Si efecto antibacteriano:** aumento del halo de inhibición
- **No efecto antibacteriano:** disminución del halo de inhibición.

Operacionalización de variables:

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
V. I: Agente antibacteriano	Sustancia, compuesto o elemento físico o químico que tiene acción bactericida o bacteriostática (35).	Se hizo 4 concentraciones de <i>Ocimum basilicum</i> “Albahaca” que fue divididas en las diluciones al: 100% 75% 50% 25% Ciprofloxacino: 5ug Solución salina	RG1 RG2 RG3 RG4 RG5 RG6	Cualitativa nominal
V. D: Efecto	Observación del crecimiento bacteriano	Se realizó el método de Kirby- Bauer y se midió el incremento	Si efecto (≥21mm) No efecto	Cualitativa nominal

antibacteriano	cuando se expone a un agente que sea capaz de inhibir el crecimiento (25).	del halo de inhibición considerando los criterios del estándar M100-S27 del CLSI (34). Sensible: ≥ 21 mm Intermedio: 16-20 mm Resistente: ≤ 15 mm	(<21mm)	
----------------	--	--	---------	--

2.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

POBLACION: Estuvo constituida por todas las cepas de *Escherichia Coli* ATCC 27923 cultivadas en el laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo.

MUESTRA

Tamaño muestra: Por tratarse de un trabajo experimental se empleó la fórmula estadística de diferencia de promedio sobre halos de inhibición, para hallar el número de placas necesarias que validen la investigación. Se obtuvo la muestra de 17 repeticiones por cada grupo de experimentación ³⁷. (Ver anexo 01)

Unidad de análisis: Cada uno de los cultivos de cepas de *Escherichia Coli* ATCC 27923.

Unidad de muestra: Cada placa Petri con cepas de *Escherichia Coli* ATCC 27923.

Muestreo: Se consideró estudiar todos los cultivos de las placas considerados en el estudio.

CRITERIOS DE SELECCIÓN: Los criterios considerados fueron

Criterios de inclusión:

- Placas Petri con cultivos viables.
- Cepas cultivadas de 18 -24 horas.

Criterios de exclusión:

- Cepas que no crecieron en el medio de cultivo.
- Cepas o muestra contaminada.

2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

LA TÉCNICA: Consistió en la observación directa de los cultivos en las placas Petri.

PROCEDIMIENTO: Consideramos seguir los siguientes pasos: (Ver Anexo 02)

- a) La planta fue certificada taxonómicamente por el herbolario Antenor Orrego-HAO.
- b) Se obtuvo el extracto etanólico de *Ocimum basilicum*, mediante el método de maceración en etanol.³³
- c) Se utilizó el medio de cultivo agar Muller-hinton para el cultivo de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 27923, en la prueba de susceptibilidad, de acuerdo a las recomendaciones del CLSI a través del estándar MO2-A12³⁶
- d) Se evaluó la susceptibilidad antibacteriana siguiendo las normas y procedimientos establecidos en los estándares MO2-12 y M100-S28 del CLSI.

INSTRUMENTO:

El instrumento que se utilizó fue la ficha de recolección de datos donde constaba el número de placa, las diluciones y la medida de los halos de inhibición a las 48. (Ver Anexo 03).

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

El instrumento estuvo validado por 3 profesionales del área que garantizaron la validez del instrumento.

2.5 MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

La información obtenida fue tabulada en una ficha Excel, y luego se analizó en el programa SPSS versión 25 para los gráficos se utilizó el diagrama de cajas o bigotes.

Se aplicaron las pruebas estadísticas para homogenizar la muestra, utilizándose el análisis de varianza (ANOVA), para evaluar la diferencia significativa entre los diámetros y el respectivo análisis post ANOVA, de Tukey o Duncan lo cual permitió identificar la dilución con la que se obtuvo el mayor tamaño de halo de inhibición.

2.6 ASPECTOS ÉTICOS:

En el estudio se tomó en cuenta las medidas de bioseguridad en el laboratorio dadas por el Ministerio de Salud ³⁹. Así mismo, se consideró la aprobación del Comité de Investigación de la Facultad De Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo de Trujillo.

En el presente trabajo se respetó el principio de ética adoptado en el capítulo 6 de código de ética del Colegio Médico del Perú ⁴⁰, especialmente el 6 art 48.

III. RESULTADOS

TABLA 01: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LA HOJA DE *OCIMUN BASILICUM* “ALBAHACA” SOBRE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* ATCC 27923 COMPARADO CON CIPROFLOXACINO, ESTUDIO IN VITRO

TABLA DESCRIPTIVA

Descriptivos VAR00001								
	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
100%	17	13.53	2.154	0.522	12.42	14.64	8	16
75%	17	7.12	2.891	0.701	5.63	8.60	0	10
50%	17	1.35	2.523	0.612	0.06	2.65	0	6
25%	17	0.00	0.000	0.000	0.00	0.00	0	0
Ciprofloxacino	17	36.41	0.795	0.193	36.00	36.82	35	38
Total	85	11.68	13.479	1.462	8.77	14.59	0	38

Fuente: Reporte de resultados SPS 25

TABLA 02: EL EXTRACTO ETANOLICO DE LA HOJA DE *OCIMUN BASILICUM* “ALBAHACA” SOBRE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* ATCC 27923 COMPARADO CON CIPROFLOXACINO, ESTUDIO IN VITRO

TABLA RESUMEN DE ANOVA

ANOVA					
VAR00001					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	14942.424	4	3735.606	933.901	0.000
Dentro de grupos	320.000	80	4.000		
Total	15262.424	84			

Fuente: Reporte de resultados SPS 25

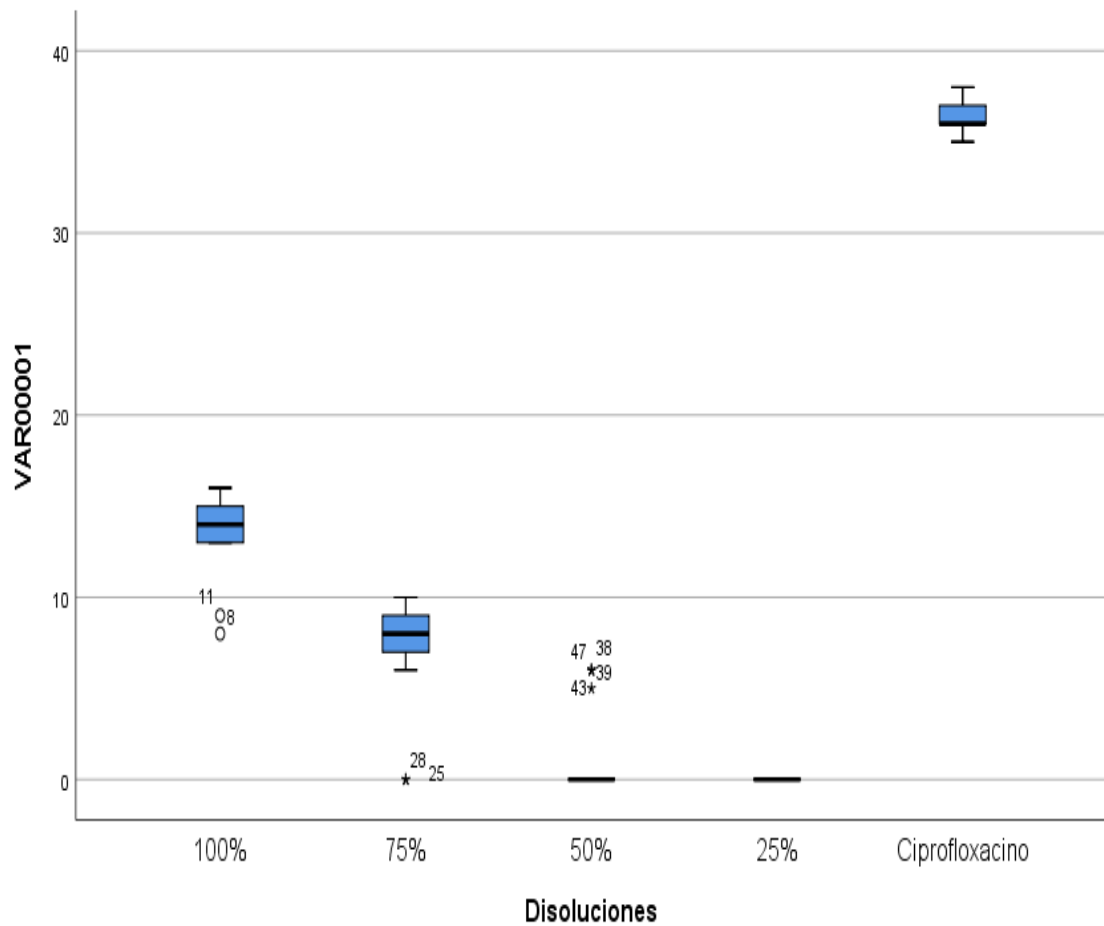
TABLA 03: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LA HOJA DE *OCIMUN BASILICUM* “ALBAHACA” SOBRE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* ATCC 27923 COMPARADO CON CIPROFLOXACINO, ESTUDIO IN VITRO

TABLA DE TUKEY

VAR00001

HSD Tukey ^a					
		Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Disoluciones	N				
25%	17	0.00			
50%	17	1.35			
75%	17		7.12		
100%	17			13.53	
Ciprofloxacino	17				36.41
Sig.		0.289	1.000	1.000	1.000

Fuente: Reporte de resultados SPS 25



Fuente: Reporte de resultados SPS 25

GRÁFICO 01: EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE LA HOJA DE *OCIMUM BASILICUM* “ALBAHACA” SOBRE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* ATCC 27923 COMPARADO CON CIPROFLOXACINO, ESTUDIO IN VITRO

IV. DISCUSIÓN

Con el objetivo de evaluar el “Efecto antibacteriano del extracto etanolico de la hoja de *ocimun basilicum* “*albahaca*” sobre cepas de *escherichia coli* ATCC 27923 comparado con ciprofloxacino, estudio in vitro”, se realizó el presente estudio experimental usando la técnica de difusión en disco, muy similar al antibiograma, y ampliamente empleado por su sencillez y rápida interpretación.

En la tabla descriptiva (01), se aprecia la comparación de los diámetros de los halos de inhibición, como manifestación del efecto antibacteriano de 4 concentraciones del extracto etanólico de *Ocimum basilum* sobre *E coli*. Al 25%, no se percibe efecto inhibitorio alguno del extracto, al 50% se observa una muy discreta inhibición a juzgar por la existencia de un diámetro de 1.35 mm, efecto que se puede considerar despreciable, mientras que al 75%, el efecto es algo importante, pues el diámetro alcanzo 7.12 mm., aunque todavía con un valor inhibitorio muy lejano al óptimo. A concentraciones del 100%, se obtuvieron valores medios de 13.53 mm., sin embargo, no alcanzan aun valores satisfactorios según el CSLI.

El efecto antibacteriano del ciprofloxacino fue observado a través del diámetro del halo de inhibición, 36.41 mm, los resultados expresan valores que superan con mucha holgura a los 21 mm de diámetro considerado por el CLSI.

Al realizar el respectivo análisis estadístico de ANOVA (Tabla 02) se obtuvo un valor de 0.000 indicando que es altamente significativo las diferencias entre los grupos de experimentación. La prueba Post ANOVA de Tukey indica que los grupos fueron homogéneos y evidencia los grupos con mayor halo de inhibición en el presente estudio continúa siendo ciprofloxacino. (Tabla 03) y en el gráfico 01, se puede visualizar estas diferencias donde se observa que el extracto etanolico de *Ocimum*

basilicum muestra acción antibacteriano pero no supera al de ciprofloxacino.

Estos resultados concuerdan con los reportados por **Adam Z. Omer A**⁴ reportando que para el caso de *E. coli* existió un halo de inhibición de 13.6 mm. Así mismo, existen otros reportes acerca del efecto inhibitorio de los extractos etanólicos y/o uso de extractos esenciales de hojas de la Albahaca como por ejemplo el de **Eriotou E et al.**⁶ que con el extracto etanólico utilizado para evaluar el efecto contra *E coli*, se observó el halo de inhibición de $15.33\text{mm} \pm 0.6.$, **Mohammed C et al**⁵, empleando el mismo extracto, mostró un halo de inhibición más elevado, de $36\text{mm} \pm 2.1$. Así mismo **Shweash M**⁸, a concentraciones de 100, 80, 60, 40, 20 y 10mg/ml, los resultados para la mayor concentración fueron un halo de $24\text{ mm} \pm 5.1$.

Otros estudios como el de Calderón y Torres ⁽⁴¹⁾, también determinaron el efecto antibacteriano del extracto acuso de la albahaca en el crecimiento bacteriano de *E. coli*, probándose que el crecimiento bacteriano de *E. coli* disminuye de manera significativa por efecto de las tres dosis de la albahaca (5 10 y 20 g), siendo la dosis de 20 gramos la que obtuvo la mayor actividad anti bacteriana.

En la tabla de Tukey, de nuestro estudio se observa que las diferentes concentraciones del extracto de *ocimun basilicum* presentan efecto anti bacteriano, siendo mayor el halo de inhibición la concentración de 100% y el ciprofloxacino. Estos resultados se parecen a los obtenidos por **Zahra A Adam y Al Fadhil A Omer**⁴ quienes, empleando extractos con distintas diluciones, coinciden en que el extracto al 100% reportaron inhibición máxima; para este autor algunas plantas afines como el romero, también producen un efecto inhibitorio. Así mismo, Assis F et al ⁴², reportan que todos los extractos fueron activos por lo menos contra dos especies de bacterias causantes de infecciones intra hospitalarias graves, particularmente contra cepas de *E. coli*.

Aunque los reportes respecto a una comparación in vitro sobre resultados del efecto anti microbiano de las hojas del *Ocimum basilicum* comparado con el ciprofloxacino no son frecuentes, es indudable que este antibiótico tiene una eficacia de 100%, como lo afirma Adam y Fadhil (4), quienes evaluaron la actividad antibacteriana del extracto de hojas de albahaca contra patógenos bacterianos y compararon resultados contra la actividad de antibióticos sintéticos. Las concentraciones empleadas del extracto y expresadas en ug/disco fueron 6.25, 12.5, 25,50 y 100 y las zonas de inhibición reportadas fueron 7.8, 8.9, 11,12, y 13.6, con lo que se demuestra que a mayor concentración del extracto mayor inhibición En este mismo estudio se reporta que ciprofloxacina muestra el mejor efecto inhibitorio frente a E coli comparado con otros antibióticos como gentamicina, ceftriaxona, cotrimoxazole y norfloxacino.

V. CONCLUSIONES

1. El extracto etanólico de la hoja de albacá muestra cierto grado de inhibición a partir del 75 %, siendo mayor de 7.12 mm de halo de inhibición, y al 100% es donde se evidencia el mayor halo de inhibición de 13.53mm (DS: 2.15 ± 0.522 IC al 95% 12.42, a 14.64) en un rango de 8-16mm. No siendo mayor o no superando el valor requerido por el CLSI para considerarlo eficaz un atb ≥ 21 mm.
2. El halo de inhibición de ciprofloxacino (36.41mm) es tres veces mayor que el halo de inhibición de la dilución al 100% del extracto etanólico de la hoja de albacá.
3. Los grupos de experimentación fueron homogéneos. La prueba estadística de Anova evidencia que el resultado de estudio son altamente significantes.
4. A mayor concentración de producto (75%- 100%) se puede diferenciar efecto antibacteriano sin embargo el efecto Atb del ciprofloxacino es tres veces mayor.

VI. RECOMENDACIONES

1. Se sugiere continuar la investigación considerando el empleo de extractos con otras presentaciones y concentraciones para evaluar su actividad anti bacteriana.
2. Se sugiere realizar mayor número de estudios que incluyan utilizar seres vivos como animales de experimentación.
3. Ampliar el estudio para evaluar el efecto sobre otros patógenos tanto in vitro como en animales de experimentación.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Organización Mundial de la Salud (OMS). Informe de la OMS señala que menores de 5 años representan casi un tercio de muertes por enfermedades de transmisión alimentaria. [Citado el 20/08/2017]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2015/foodborne-disease-estimates/es/>
2. Organización Mundial de la Salud (OMS). Factsheet on E.coli. [Citado el 20/08/2017]. Disponible en: http://www.who.int/foodsafety/foodborne_disease/ecoli.pdf
3. Krapp K, Longe J. Medicina alternativa. Barcelona, España: Oceano/Ergon; 2010.
4. Zahra A, Omer A. Antibacterial Activity of Ocimum basilicum (Rehan) leaf extract against Bacterial Pathogens in Sudan http://www.usa-journals.com/wp-content/uploads/2015/07/Adam_Vol38.pdf
5. Mohammed C, Douniazad A, Rakotomanomana N, Fernandez X. Comparative Study of Essential Oils Extracted from Egyptian Basil Leaves (Ocimum basilicum L.) using Hydro-Distillation and Solvent-Free Microwave Extraction. Mol Biol Med. 2015; 21: pp 133-154. [Citado el 20/08/2017]. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/3c3d/4e5f1bbf0a24392094a01c654aa5534f1c8a.pdf>
6. Eriotou E, Anastasiadou K, Ikolopoulos D, Koulougliotis D. Antimicrobial and Free Radical Scavenging Activities of Basil (Ocimum basilicum) Essential Oil Isolated from Five Plant Varieties Growing in Greece. J Nutr Biochem. 2015; 05: 114-119. [Citado el 20/08/2017]. Disponible en: <https://www.omicsonline.org/open-access/antimicrobial-and-free-radical-scavenging-activities-of-basil-ocimum-basilicum-essential-oil-isolated-from-five-plant-varieties-growing-in-greece-2155-9600-1000367.pdf>

7. Silva V, Sousa J, Guerra F, Pessôa H, Freitas A, Alves L, Lima E. Antibacterial Activity of *Ocimum basilicum* Essential Oil and Linalool on Bacterial Isolates of Clinical Importance. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 2015; 7(6): 1066-1071. Disponible desde:
<http://impactfactor.org/PDF/IJPPR/7/IJPPR,Vol7,Issue6,Article7.pdf>
8. Muhannad S, Khashan A, Farhan Y, Nasser S. Antibacterial activity of ethanolic extract of leaves sweet basil (*Ocimum basilicum*) against diarrhea caused by *Escherichia coli* in vitro.
[http://scienceandnature.org/IJSN_Vol5\(4\)D2014/IJSN-VOL5\(3\)14-23.pdf](http://scienceandnature.org/IJSN_Vol5(4)D2014/IJSN-VOL5(3)14-23.pdf)
9. Sarhan S, Orooba I. Antibacterial activity of ethanolic extract of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves against *Escherichia coli* in experimentally infected Rats. *Kufa Journal for Veterinary Medical Sciences*. 2014; 2(5). Disponible desde:
<https://www.iasj.net/iasj?func=fulltext&ald=126759>
10. Khalil A. Antimicrobial activity of etanolic extracts of *Ocimum basilicum* leaf from sauditi Arabia disponible en:
<http://scialert.net/qredirect.php?doi=biotech.2013.61.64&linkid=pdf>
11. Unnithan C, Dagnaw W, Undrala S, Subban R. Chemical Composition and Antibacterial activity of Essential oil of *Ocimum basilicum* of Northern Ethiopia *J Biol Syst*. 2013; 02: 1-4. [Citado el 20/08/2017]. Disponible en:
<http://www.isca.in/IJBS/Archive/v2/i9/1.ISCA-IRJBS-2012-233.pdf>
12. Saha S, Nath T, Sengupta C, Ghosh P. Biological Activities of Essential Oils and Methanol Extracts of Five *Ocimum* Species against Pathogenic Bacteria. *J. Food Sci*. 2013; 02: 194-122. [Citado el 20/08/2017]. Disponible en: <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/89890.pdf>
13. Daneshian A, Shayegh J, Peyman M, Dolghari J. Antimicrobial activity of essential oil extract of *Ocimum basilicum* L. leaves on a variety of pathogenic bacteria. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011; 5(15): 3453-3456. Disponible desde:

<http://www.academicjournals.org/journal/JMPR/article-full-text-pdf/FC5A17319822>

14. Araujo V, Pereira J, De Luna H, Ramos F, Melo D, Nogueira B, Oliveira E. *Ocimum basilicum*: Antibacterial activity and association study with antibiotics against bacteria of clinical importance. *Pharm Biol.* 2016; 54(5): 863-7. Disponible desde: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26455352>
15. Hossain M, Kabir M, Salehuddin S, Rahman S, Das A, Singha S, Alam M, Rahman A. Antibacterial properties of essential oils and methanol extracts of sweet basil *Ocimum basilicum* occurring in Bangladesh. *Pharm Biol.* 2010; 48(5):504-11. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20645791>
16. Longo D, Kasper D, Jomson J, Fousi A, Houser S, Loscalzo J. Harrison Principios de Medicina Interna. Vol 3. 18º edición. México D.F. Edit Mc Graw Hill; 2008.
17. Forbes B, Sanm D, Weissfeld A, Trevio E. Diagnostico microbiológico. 11º edición. Uruguay. Edit Med Panam; 2004.
18. Ammad N, Plorde J, Lawrence W. Sherris: Microbiología médica. 5º edición. Colombia, Santa Fe. Edit Mc Graw Hill; 2010.
19. Brooks G, Carrol K, Buyel J, Morse S, Migtzner T. Microbiología médica. 25º ed. Colombia, Santa Fe: Edit. Mc Graw Hill; 2010.
20. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Microbiología médica. 6º ed. Barcelona, España: Edit. Elsevier Masson; 2009.
21. Balasini C, Reina R, Candela M. Infectología crítica manejo de la patología infecciosa en el paciente grave. Buenos Aires, Argentina: Edit Méd Panam; 2014.
22. Dell'Elce A, Patricelli P, Mostafa M, Ramírez E, Presa C, Cadoche L, Weidmann C, Baroni E, Formentini E. Actividad in vitro de ciprofloxacina

sobre *Escherichia coli* a pH 7,4-6,5 y 5,5. IV Jornada de difusión de la investigación y extensión. Argentina, 2016. Disponible desde: http://www.fcv.unl.edu.ar/media/investigacion/JornadaFCV2016/fscomma nd/SA_DELLELCE_A_ACTIVIDAD.pdf

23. Monteiro A, Correa R. *Escherichia coli* resistente a ciprofloxacina em pacientes internados em hospital universitário de Manaus, 2015. R Epidemiol Control Infec, Santa Cruz do Sul. 2017; 7(1): 20-24. Disponible desde: <https://online.unisc.br/seer/index.php/epidemiologia/article/viewFile/7758/5638>
24. Maestre S. Resistencia a ciprofloxacino de *Escherichia coli* aislado en mujeres con pielonefritis aguda que precisan ingreso hospitalario. 2016. Disponible desde: <http://dspace.umh.es/bitstream/11000/3288/1/MAESTRE%20VERDU%20C%20SARA.pdf>
25. García F, Mostacero J. Flora etnomedicinal de la región amazónica del Perú. Trujillo, Perú; 2009.
26. Benetti J, Dolin R, Blaser M. Enfermedades infecciosas principios y práctica. vol 2. 8º ed. Barcelona, España: Elsevier Masson; 2015.
27. Noguera A, Saavedra J, Nuñez E. Infectología pediátrica avanzada. Madrid: Edit Med Panam; 2014.
28. Southwick F. Enfermedades infecciosas. 2º ed. México D.F: Edit. Mc Graw Hill; 2009.
29. Castro D, Diaz J, Serna R, Martínez M. Cultivo y producción de plantas aromáticas y medicinales. Colección ciencias tecnología y salud. 2ª ed. 2013. Colombia. Disponible en: <http://www.uco.edu.co/investigacion/fondoeditorial/libros/Documents/Libro%20Plantas%20Aromaticas%202013.pdf>

30. Moré E, Fanlo M, Melero R, Cristóbal R. Guía para la producción Sostenible de plantas aromáticas y medicinales. España. 2010. Disponible en: <http://apsb.ctfc.cat/docs/GUIA%20PAM-CASTELLAfina.pdf>
31. Krapp K, Longe J. Medicina alternativa. Barcelona. Edit. Oceano/Ergon; 2010.
32. Cebrian J. Diccionario de plantas medicinales. Barcelona: Edit. Integra; 2012.
33. Robbers J, Tyler V. Las hierbas medicinales de Tyler uso terapéutico de la fitomecinas. Barcelona:Edit. Acribia S.A; 2006.
34. Valera G. Las plantas medicinales y su beneficio en la salud. Edit. Lima ed. AIDSESEP, 1994.
35. Alzate E. Plantas medicinales. 15ª ed. Medellín. Ed. Arzobispado de Medellín. 1980.
36. Vanaclocha B. Cañigüeral S. Fitoterapia. Vademécum de prescripción.4ª ed. Barcelona: Edit. Masson, 2003.
37. Dawson B, Trapp R. Bioestadística Médica, 3ra. ed. México: Edit. Manual Moderno; 1999.
38. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI Supplement M100S. 19087 USA, 2016. [citado: 25 de May de 2017]. Disponible en: <http://ljzx.cqrmhospital.com/upfiles/201601/20160112155335884.pdf>
39. Sistema de Gestión de la Calidad del Pronahebas, Ministerio de Salud (MINSA). Manual de Bioseguridad: Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre, 2004. norma técnica N° 015 - MINSA / DGSP - V.01. 2004. Perú. [citado: 2017 Jun 2]. Disponible en:

<http://www.minsa.gob.pe/dgsp/observatorio/documentos/infecciones/manual%20de%20bioseguridad.pdf>

40. Colegio Médico del Perú. Código de Ética y Deontología. Lima [Perú]: CMP; 2007. [citado: 2017 Jun 2]. Disponible en: http://cmp.org.pe/wp-content/uploads/2016/05/ley_creacion_cmp.pdf
41. Calderón J, Torres E. Efecto del extracto acuoso de *Ocimum basilicum* (Albahaca) en el crecimiento bacteriano de *E.coli*. Revista del Encuentro Científico Internacional ISSN-e 1813 – 0194. 2014; 10(2): 36-44.
42. Assis F, Siqueira F, Goncalves I, Lacerda R, Nascimento R, Araujo S, Andrade J, Herrera K, Lima L, Ferreira J. En su estudio Antibacterial Activity of Lamiaceae plant extracts in clinical isolates of multidrug resistant bacteria. En Anais da Academia Brasileira de Ciencias (2018) 90 (2):1665-1670.

VIII. ANEXO

ANEXO 01

TAMAÑO DE MUESTRA

$$n = \frac{\left(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta} \right)^2 (P_1 Q_1 + P_2 Q_2)}{(P_1 - P_2)^2}$$

$$Z_{\frac{\alpha}{2}} = 1.96$$

$$Z_{\beta} = 0.84$$

$$P_1 = 0,49^4$$

$$P_2 = 0,095^9$$

$$Q_1 = 1 - P_1 = 0,51$$

$$Q_2 = 1 - P_2 = 0,905$$

$N=16,88 \approx 17$ (número de repeticiones por cada grupo de experimentación).

ANEXO 02

PROCEDIMIENTO

1. Tratamiento de la muestra

Las plantas frescas de *Ocimum basilicum* (albahaca), se obtuvieron en el mercado La Hermelinda de Trujillo, en una cantidad de 1 a 2 Kg aproximadamente y se llevaron al laboratorio de Microbiología de la Universidad César Vallejo de Trujillo, donde se seleccionaron los ejemplares con buenas condiciones; de este modo, se obtuvo la “muestra fresca” (MF). La MF se lavó con agua destilada clorada, se colocó sobre una bandeja de cartulina y se llevó a un horno a 40-45°C por 3-4 días donde se deshidrató. Después, se estrujó manualmente el vegetal seco hasta que se obtuvo partículas muy pequeñas y se reservó almacenándolas herméticamente en bolsas negras. A esto se le consideró como “muestra seca” (MS).



2. Obtención del extracto etanólico

El extracto etanólico de *Ocimum basilicum* se obtuvo por el método de maceración en etanol de 96°; para ello, se colocó en un frasco de vidrio 20 g de MS y 100 ml de etanol, se tapó el frasco herméticamente y se cubrió totalmente con papel aluminio. Luego, se dejó en lugar fresco y seco, a temperatura ambiente, por 8 días con agitación de 3 a 4 veces diarias. Después, se hizo una doble filtración. Primero se filtró a través de una gasa estéril y segundo a través de un papel filtro Whatman N°41. Este filtrado, se evaporó por ventilación con corrientes de aire frío en circuito cerrado en estufa, por 1 a 2 días, hasta que quede a una concentración mayor a 100 mg/mL. De este modo, se obtuvo el extracto etanólico (EE) considerado al 100%; el cual, se reservó en un frasco de vidrio ámbar a 4°C–6°C hasta su utilización.



3. **Preparación del medio de cultivo**

Se utilizó agar Mueller-Hinton como medio de cultivo. Se preparó suficiente medio para 10 placas Petri. Este medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se sirvió en Placas Petri estériles de plástico desechables, 18-20 ml por cada placa, y se dejó reposar hasta que solidificó completamente.

Prueba de susceptibilidad (Prueba de Disco difusión en agar)

Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se consideró los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta los estándares M02-A12 y M100.

a. Preparación del inóculo

El inóculo se preparó colocando 3-4 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Escherichia coli* ATCC 27923, cultivado hace 18-20 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml aprox.)

b. Siembra del microorganismo Se sembró el microorganismo *Escherichia coli* ATCC 27923, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie.

c. Preparación de las concentraciones del EE

A partir del EE, se prepararon 4 concentraciones (100%, 75%, 50% y



25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfóxido (DMSO); para ello, se rotularon 4 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750 μ L de EE y 250 μ L de DMSO al tubo de 75%, 500 μ L de EE y 500 μ L de DMSO al tubo de 50%, y 250 μ L de EE y 750 μ L de DMSO al tubo de 25%.

d. Preparación de los discos de sensibilidad con EE

A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10 μ L en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10 μ L de EE al 25% y se colocó en un disco, 10 μ L de AE al 50% en otro disco, 10 μ L de EE al 75% en otro disco y 10 μ L de EE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 10 veces.



e. Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano

Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados, uno de cada concentración con EE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo *Escherichia coli* ATCC 27923, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se colocó el disco con Ciprofloxacino (control positivo). Se dejaron en reposo por 15 min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35-37°C por 18-20 horas.

f. Lectura e interpretación

La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de EE de *Ocimum basilicum* y para el Ciprofloxacino. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100 del CLSI.

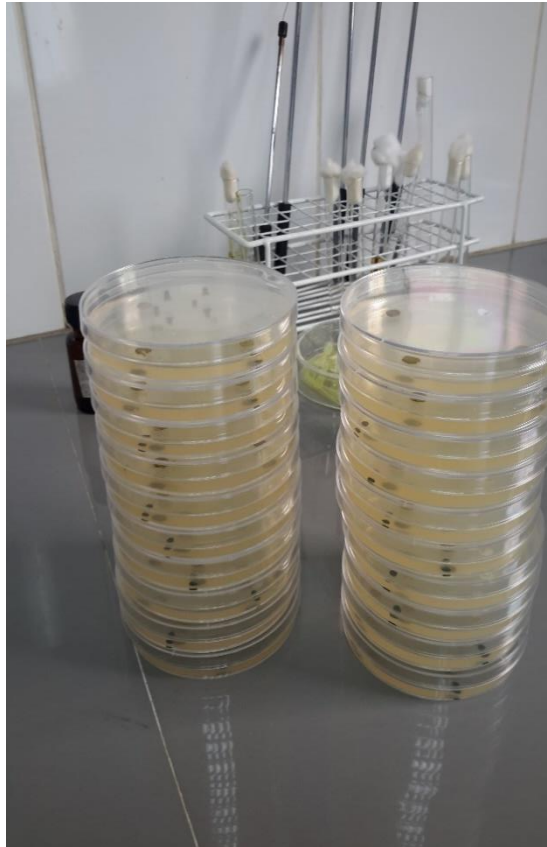


TABLA DE DATOS

HALOS DE INHIBICIÓN (mm)						
Nº repet	Extracto etanólico de albahaca					
	100%	75%	50%	25%	ciprofloxacino	soluciones
1	13	8	0	0	37	0
2	15	7	0	0	36	0
3	13	7	0	0	36	0
4	13	6	6	0	37	0
5	16	10	5	0	36	0
6	14	8	0	0	38	0
7	14	8	0	0	36	0
8	8	0	0	0	35	0
9	14	8	6	0	36	0
10	15	9	0	0	36	0
11	9	0	0	0	36	0
12	15	9	0	0	38	0
13	16	10	6	0	37	0
14	14	9	0	0	36	0
15	13	8	0	0	36	0
16	15	7	0	0	37	0
17	13	7	0	0	36	0

Comparaciones múltiples

Variable dependiente:

HSD Tukey

(I) Disoluciones		Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
100%	75%	6.412*	0.686	0.000	4.50	8.33
	50%	12.176*	0.686	0.000	10.26	14.09
	25%	13.529*	0.686	0.000	11.61	15.44
	Ciprofloxacino	-22.882*	0.686	0.000	-24.80	-20.97
75%	100%	-6.412*	0.686	0.000	-8.33	-4.50
	50%	5.765*	0.686	0.000	3.85	7.68
	25%	7.118*	0.686	0.000	5.20	9.03
	Ciprofloxacino	-29.294*	0.686	0.000	-31.21	-27.38
50%	100%	-12.176*	0.686	0.000	-14.09	-10.26
	75%	-5.765*	0.686	0.000	-7.68	-3.85
	25%	1.353	0.686	0.289	-0.56	3.27
	Ciprofloxacino	-35.059*	0.686	0.000	-36.97	-33.14
25%	100%	-13.529*	0.686	0.000	-15.44	-11.61
	75%	-7.118*	0.686	0.000	-9.03	-5.20
	50%	-1.353	0.686	0.289	-3.27	0.56
	Ciprofloxacino	-36.412*	0.686	0.000	-38.33	-34.50
Ciprofloxacino	100%	22.882*	0.686	0.000	20.97	24.80
	75%	29.294*	0.686	0.000	27.38	31.21
	50%	35.059*	0.686	0.000	33.14	36.97
	25%	36.412*	0.686	0.000	34.50	38.33

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.



UPAO

Museo de Historia Natural y Cultural

HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO)

CONSTANCIA N° 64-2018-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:

CONSTANCIA

Que **Luber Jhonny Flores Chinín**, estudiante de la Carrera profesional de Medicina Humana de la Universidad César Vallejo, ha solicitado la determinación de material vegetal, el cual corresponde a la siguiente especie:


Ocimum basilicum L. (Lamiaceae)

El mismo que será utilizado para el proyecto de investigación titulado: "Efecto antibacteriano del extracto etanólico de la hoja de *Ocimum basilicum* "albahaca" sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25923 comparado con ciprofloxacino, estudio *in vitro*".

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que correspondan.

Trujillo, 20 de noviembre de 2018




Mg. Segundo Lelva González
Director
Museo de Historia Natural y Cultural